

499332

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 615.32:615.07

УДК 615.32:582.688.3]:615.07(043.3)

В 31

Веремчук
Оксана Александровна

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ВЕРЕСКА ОБЫКНОВЕННОГО ПОБЕГОВ
И РАЗРАБОТКА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА НА ИХ
ОСНОВЕ

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

по специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств. Фармацевтическая
химия, фармакогнозия. Организация фармацевтического дела

Витебск 2018

ВВЕДЕНИЕ

Одним из приоритетных направлений развития фармацевтической промышленности является разработка отечественных лекарственных средств, в т.ч. на основе растительного сырья. Биологически активные вещества, содержащиеся в растениях, оказывают комплексное «мягкое» действие и реже вызывают развитие побочных реакций и привыкания по сравнению с синтетическими аналогами.

Частота встречаемости воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата, в частности артритов, постоянно растет. Нестероидные противовоспалительные средства присутствуют в клинических протоколах лечения воспалительных заболеваний суставов различной этиологии, при этом курс лечения может превышать несколько недель, что увеличивает риск возникновения побочных реакций. На сегодняшний день на фармацевтическом рынке БАЭС среди фитопрепаратов, обладающих противовоспалительными свойствами, основную долю занимают комбинированные лекарственные средства для местного применения. В качестве лекарственного растительного сырья, используемого для лечения воспалительных заболеваний суставов, в Государственную фармакопею Республики Беларусь (ГФ РБ) внесены корневища с корнями и трава сабельника болотного [О.А. Ершик, 2008, 2009]. В Российской Федерации зарегистрирована настойка сабельника, которая оказывает анальгезирующее и противовоспалительное действие.

Литературные данные свидетельствуют о том, что надземная часть вереска обыкновенного (*Calluna vulgaris* (L.) Hull.) может оказывать противовоспалительное действие [I. Orhan [et al.], 2007]. В побегах данного растения содержится большое количество фенольных соединений, в том числе флавоноидов, проантоцианидинов и фенольных кислот, однако на сегодняшний день отсутствуют современные методики анализа вереска обыкновенного как лекарственного растительного сырья [С.В. Онегин, 2008, М. Monschein [et al.], 2010]. Вереск обыкновенный широко распространен на территории Республики Беларусь как дикорастущее растение, а также культивируется в декоративных целях. Вереск обыкновенный не включен в ГФ РБ, поэтому изучение фармакологической активности, разработка методик стандартизации данного вида сырья, а также выбор лекарственной формы являются актуальными проблемами.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационная работа выполнена в рамках темы «Скрининг химического состава и фармакологической активности представителей семейств Вересковые (*Ericaceae*) и Брусничные (*Vacciniaceae*) флоры Республики Беларусь»,

финансируемой Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований по договору № M13M-090 (номер государственной регистрации 20131594 от 17.07.2013 г.), а также в рамках темы «Скрининг фитообъектов флоры Республики Беларусь с иммунотропной активностью» (номер государственной регистрации 20121937 от 20.06.2012 г.).

Тема диссертационной работы соответствует подпункту 2.7 «Новые лекарственные средства и биокорректоры различных заболеваний, фармацевтические субстанции, современные диагностические тест-системы, технологии их производства, оценки качества и безопасности» перечня приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2016-2020 годы, утвержденного постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 28.12.2015 г. № 1096 в ред. от 16.12.2016 г. № 1038.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: обосновать применение вереска обыкновенного побегов (*Callunae vulgaris cormus*) в качестве лекарственного растительного сырья для получения противовоспалительных лекарственных средств.

Задачи исследования:

1. Разработать и валидировать методику количественного определения флавоноидов методом жидкостной хроматографии в вереска обыкновенного побегах. С помощью разработанной методики изучить динамику накопления флавоноидов и гидроксикоричных кислот в зависимости от периода вегетации и режима сушки вереска обыкновенного побегов, а также оценить стабильность БАВ в данном растительном сырье при хранении.

2. Установить показатели качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение) вереска обыкновенного побегов для включения в проект нормативной документации на лекарственное растительное сырье.

3. Провести доклиническую оценку безопасности (острая токсичность, подострая токсичность) и эффективности (противовоспалительная активность) настойки вереска обыкновенного побегов, а также изучить антимикробные и антирадикальные свойства водно-спиртовых извлечений из вереска обыкновенного побегов.

4. Предложить технологию получения настойки вереска обыкновенного побегов, разработать показатели качества и изучить стабильность настойки вереска обыкновенного побегов при хранении.

Научная новизна

Получены новые экспериментальные данные об оптимальных условиях экстракции суммы флавоноидов и суммы фенольных соединений из вереска обыкновенного побегов, на основании которых разработана и валидирована

методика количественного определения флавоноидов в вереска обыкновенного побегов методом жидкостной хроматографии.

Для включения в нормативную документацию на вереска обыкновенного побегов впервые предложены и экспериментально обоснованы показатели качества. Методом жидкостной хроматографии установлено, что в побегах вереска обыкновенного доминирующим флавоноидом является изокверцитрин. Впервые изучена зависимость содержания биологически-активных веществ (БАВ) от режима сушки вереска обыкновенного побегов и проведены испытания стабильности при хранении сырья в течение двух лет.

В экспериментах *in vitro* и *in vivo* доказана противовоспалительная активность настойки вереска обыкновенного побегов, а также установлена противовоспалительная активность изокверцитрина – основного компонента данной лекарственной формы.

С учетом особенностей экстракции суммы БАВ обосновано применение вереска обыкновенного в виде настойки, разработана технология ее получения, предложены показатели качества настойки вереска обыкновенного побегов и получены экспериментальные данные о ее безопасности и стабильности в течение двух лет хранения.

Положения, выносимые на защиту

1. Методика стандартизации вереска обыкновенного побегов методом жидкостной хроматографии по доминирующему флавоноиду – изокверцитрину, содержание которого должно составлять не менее 1,0%.

2. Показатели качества, включенные в проект фармакопейной статьи на вереска обыкновенного побегов: внешние признаки; микроскопия; условия проведения тонкослойной хроматографии; потеря в массе при высушивании должна быть не более 14,0%; содержание общей золы – не более 5,0%; содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, – не более 2,0%; содержание суммы флавоноидов – не менее 1,5%; содержание изокверцитрина – не менее 1,0%.

3. Показатели качества вереска обыкновенного побегов не изменяются в процессе хранения сырья в естественных условиях в защищенном от света месте в течение двух лет, что подтверждает стабильность сырья. Вереска обыкновенного побегов рекомендуется заготавливать в конце июля (начало цветения) и сушить воздушно-теньевым способом.

4. Настойка вереска обыкновенного побегов является безопасной при интрагастральном введении ($DL_{50} > 5000$ мг/кг). В остром и хроническом эксперименте на лабораторных животных достоверно снижает воспалительный отек на 80% и на 49% соответственно. Противовоспалительный эффект

изокверцитрина составляет до 60% от общего фармакологического эффекта настойки при содержании в общей сумме флавоноидов около 50%.

5. Технология получения и показатели качества настойки вереска обыкновенного побегов. Настойку вереска обыкновенного побегов рекомендуется получать способом мацерации в течение шести дней. Для идентификации и количественного определения действующих веществ в настойке предложен метод жидкостной хроматографии.

Личный вклад соискателя

Формулирование цели и задач исследования, положений, выносимых на защиту, и заключения проведено совместно с научным руководителем. Автором выполнены анализ литературных источников и экспериментальная часть работы, проведена статистическая обработка полученных данных. Соавтором публикаций является научный руководитель: кандидат фармацевтических наук, доцент Д.В. Моисеев. Личный вклад соискателя – 85%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Материалы диссертации доложены и обсуждены на XII, XIII, XIV, XV международных научно-практических конференциях «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 2012-2015 гг.); 68-ой, 69-ой, 70-ой, 71-ой научных сессиях сотрудников университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (Витебск, 2013-2016 гг.); 65-ой, 66-ой, 67-ой, 68-ой итоговых научно-практических конференциях студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (Витебск, 2013-2016 гг.); IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2014 г.); Республиканской конференции молодых ученых с международным участием «Минский консилиум – 2014» (Минск, 2014 г.); конференции с международным участием «Молодые ученые 21 века – от современных технологий к инновациям» (Самара, 2014 г.); научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые XXI века – от идеи к практике» (Самара, 2015 г.); Республиканской научно-практической конференции в рамках выставки «Здравоохранение Беларуси - 2015» (Минск, 2015 г.); IV научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 2016 г.); международной научно-практической конференции «Белорусские лекарства» (Минск, 2016 г.); научно-практической конференции «III Гаммермановские чтения» (Санкт-Петербург, 2017 г.).

Получен патент на изобретение по заявке № а 20160107 от 28 марта 2016 г. Утверждены и приняты к использованию в УО «Витебский государственный

ордена Дружбы народов медицинский университет» четыре рационализаторских предложения.

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования, используются кафедрами УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» в образовательном процессе, а также отделом контроля качества лекарственных средств ООО «НПК Биотест» и отделом фармакологии и фармации ИБОХ НАН Беларуси, что подтверждается 9 актами о практическом использовании результатов исследования.

Опубликование результатов диссертации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 30 печатных работ. В журналах, включенных в «Перечень научных изданий, рекомендованных для опубликования результатов диссертационных исследований», опубликовано 5 статей (объем в авторских листах 2,8). В материалах конференций, сборниках научных работ и тезисах докладов опубликовано 23 печатные работы (объем в авторских листах 3,5). Материалы фармакопейной статьи «Вереска обыкновенного побего» опубликованы в журнале «Новости экспертизы и регистрации». Опубликованы сведения о патенте на изобретение. Общий объем опубликованных работ 6,5 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 161 странице на русском языке и включает введение, общую характеристику работы, основную часть, которая состоит из пяти глав (аналитический обзор литературы; материалы и методы исследования; три главы результатов экспериментальных исследований), заключение, библиографический список и приложения. Работа содержит 37 таблиц, которые занимают 15 страниц, и 30 рисунков, которые занимают 14 страниц. Приложения занимают 23 страницы. Библиографический список занимает 20 страниц и включает 203 источника, в т.ч. 114 – на иностранных языках и 30 публикаций соискателя. Объем текста без библиографического списка, приложений, таблиц и иллюстраций – 89 страниц.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Глава 1 Аналитический обзор литературы

В аналитическом обзоре литературы проанализированы современные литературные данные об исследовании химического состава и фармакологической активности представителей растений семейства *Ericaceae*, в том числе вереска обыкновенного.

Глава 2 Материалы и методы исследования

Исследование проводили на образцах вереска обыкновенного побегов (*Callunae vulgaris cornus*), заготовленных в различных регионах Республики

Беларусь в местах естественного произрастания. Использовали воздушно-сухое сырье. Для изучения динамики накопления БАВ заготовку сырья осуществляли в разные фазы вегетации. Влияние режима сушки на содержание БАВ изучали на свежесобранном сырье, высушенном при различных условиях.

Анализ компонентного состава фенольных соединений проводили с использованием тонкослойной хроматографии (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием. Для идентификации соединений использовали стандартные образцы флавоноидов, фенольных и гидроксикоричных кислот.

Количественное определение суммы флавоноидов проводили с использованием метода ВЭЖХ, а также по спектрофотометрической методике с раствором 30 г/л алюминия хлорида в 96% спирте (об/об). Для количественного определения суммы фенольных соединений использовали реакцию с фосфорномолибденово-вольфрамовым реактивом в растворе натрия карбоната с последующим измерением оптической плотности раствора. Разработку и валидацию методики количественного определения суммы флавоноидов в вереска обыкновенного побегах методом жидкостной хроматографии проводили согласно требованиям ГФ РБ и Техническому кодексу установившейся практики (ТКП) «Валидация методик испытаний» 432-2012 (02041). Изучение внешних, анатомо-диагностических признаков и числовых показателей проводили по методикам, изложенным в ГФ РБ.

Токсикологические и фармакологические исследования на лабораторных животных (*in vivo*) и в культуре клеток (*in vitro*) выполняли согласно ТКП «Надлежащая лабораторная практика» 125-2008 (02040) и руководствам по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Исследования *in vivo* проводили на беспородных половозрелых мышях и крысах обоих полов, которых содержали в виварии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». Противовоспалительную активность *in vivo* изучали на моделях каррагинанового отека лапы крыс (острое воспаление) и адьювантного артрита у крыс (хроническое иммунное воспаление). Исследования противовоспалительной активности *in vitro* проводили на лимфоцитах человека, выделенных из крови здоровых добровольцев (выработка ИЛ-1 β) и на культуре макрофагов линии RAW 264,7 (выработка ТФР- β). От всех добровольцев получено письменное информированное согласие. Концентрацию указанных цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов. Антирадикальную активность устанавливали в отношении катион-радикалов ABTS⁺ и долгоживущих радикалов DPPH *in vitro*. Процент поглощения устанавливали по изменению оптической плотности исследуемых

растворов. Определение антимикробной активности водно-спиртовых извлечений из вереска обыкновенного побегов проводили методом диффузии в агар, согласно требованиям ГФ РБ.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы «Statistica Advanced 10.0» и пакета программ «MS Office Excel 2007». Достоверность различий выборок при проведении фитохимических, токсикологических и фармакологических испытаний оценивали методами параметрической и непараметрической статистики после проведения проверки характера распределения данных.

Глава 3 Стандартизация вереска обыкновенного побегов

Проведенный макро- и микроскопический анализ вереска обыкновенного побегов, произрастающего в агро-климатических условиях Республики Беларусь, позволил установить отсутствие различий в морфологических и анатомических признаках от растений других популяций. Сравнение проводили с литературными данными. Для цельного и измельченного сырья установлены следующие диагностические признаки:

Внешние признаки:

- мелкие сидячие листья эрикоидного типа, расположенные супротивно, образуя четыре ряда;
- мелкие лиловые или лилово-розовые четырехчленные цветки, образующие одностороннее кистевидное соцветие;
- запах сырья ароматный.

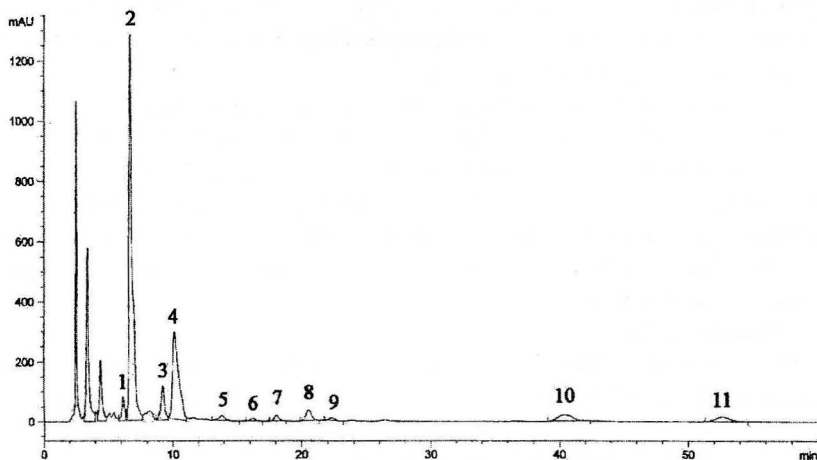
Микроскопия:

- клетки эпидермы листа с сильноизвилистыми стенками;
- выступающие над плоскостью листовой пластинки устьица ананоцитного типа;
- наличие простых одноклеточных остроконусовидных и крючковидных волосков;
- характер эпидермы пыльников;
- пыльцевые тетрады.

Методом ТСХ подтверждено наличие изокверцитрина, гиперозида, кверцетина и хлорогеновой кислоты в вереска обыкновенного побегах. Предложенная методика хроматографического разделения валидирована по показателям «специфичность» и «воспроизводимость» и может быть использована для проведения контроля качества сырья на всех этапах производства. Разработанная методика включена в проект фармакопейной статьи на вереска обыкновенного побегов.

С использованием метода ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием в вереска обыкновенного побегах идентифицированы 11 флавоноидов (рисунок 1) и 4 кислоты: хлорогеновая кислота, циннамовая

кислота, бензойная кислота, 4-гидроксibenзойная кислота. Среди обнаруженных соединений доминирующим компонентом флавоноидной природы является изокверцитрин (свыше 50% от суммы площадей пиков флавоноидов), доминирующей кислотой – хлорогеновая кислота (более 49% от суммы площадей пиков фенольных и гидроксикоричных кислот).



1 – рутин, 2 – изокверцитрин, 3 – лютеолин-7-глюкозид, 4 – гиперозид, 5 – кемпферол-3-галактозид, 6, 7, 9 – не идентифицированный флавоноид, 8 – гербацетин-8-глюкозид, 10 – кверцетин, 11 – лютеолин

Рисунок 1. – Хроматограмма спиртового извлечения из вереска обыкновенного побегов (длина волны детекции 360 нм)

При использовании масс-спектрометрического способа детектирования уточнен спектр фенольных кислот, переходящих в водно-спиртовые извлечения из вереска обыкновенного побегов. В частности, идентифицированы галловая кислота, кофейная кислота, феруловая кислота и кумаровая кислота, которые содержатся в небольших количествах (от 0,01% до 0,1% в пересчете на сухое сырье).

В процессе разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в вереска обыкновенного побегах методом жидкостной хроматографии экспериментально установлены следующие *оптимальные условия проведения экстракции*:

- экстрагент – 60% этанол (об/об);
- температура экстракции – 100°C (кипящая водяная баня);
- продолжительность экстракции – 60 мин;
- соотношение сырья и экстрагента – 1 к 25;

- измельченность порошка сырья – 750 мкм.

Условия хроматографирования:

- колонка длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная силикагелем октисилильным для хроматографии с размером частиц 5 мкм;
- подвижная фаза: смесь ацетонитрила и 0,01 М раствора калия дигидрофосфата с pH 3,0±0,2 в объемном соотношении 20:80;
- скорость подачи подвижной фазы – 1 мл/мин;
- объем инжестируемой пробы – 20 мкл;
- температура колонки – 30°C;
- время анализа – 55 минут.

Описанная методика валидирована в соответствии с нормативными требованиями по параметрам «специфичность», «линейность» ($y = 23,81x + 0,166$, $R^2 = 0,9995$), «точность» ($RSD\% = 1,5\%$), «правильность» (открываемость $102,1 \pm 1,3\%$, $RSD = 0,36\%$) и «робастность» и может быть использована для проведения контроля качества вереска обыкновенного побегов при его рутинном анализе. При проведении диссертационного исследования данная методика использована для количественного определения суммы флавоноидов в образцах вереска обыкновенного побегов, заготовленных в разных регионах Республики Беларусь и в разные фазы вегетации, а также при проведении анализа сырья после разных режимов сушки и в процессе хранения.

Определены и включены в проект фармакопейной статьи на вереска обыкновенного побеги следующие показатели:

- потеря в массе при высушивании: не более 14,0%;
- зола общая: не более 5,0%;
- зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте: не более 2,0%.
- допустимые примеси: несырьевые части растения (побуревшие, почерневшие части растения) – не более 2,0%; органические примеси – не более 1,0%; минеральные примеси – не более 1,0%.
- содержание флавоноидов в пересчете на изокверцитрин в сухом сырье должно составлять не менее 1,5%.

Период заготовки, режим сушки и стабильность при хранении

Максимальное накопление флавоноидов в вереска обыкновенного побегах, заготовленных на территории Республики Беларусь, отмечалось в фазу начала цветения (конец июля) и составило $4,07 \pm 0,05\%$. Для индивидуальных соединений (изокверцитрина и гиперозида) данный показатель составил $2,36 \pm 0,03\%$ и $0,71 \pm 0,02\%$, соответственно. При заготовке сырья в более ранние месяцы (май-июнь) оно не соответствует разделу «Внешние признаки». В фазу массового цветения (август) содержание флавоноидов в сырье достоверно снижается ($p < 0,05$) в 1,5 раза. Вереска обыкновенного побеги рекомендуется сушить воздушно-теньевым способом, что позволяет получить сырье с максимальным

содержанием БАВ по сравнению с другими видами сушки (воздействие температуры с вентиляцией и без, сушка на солнце).

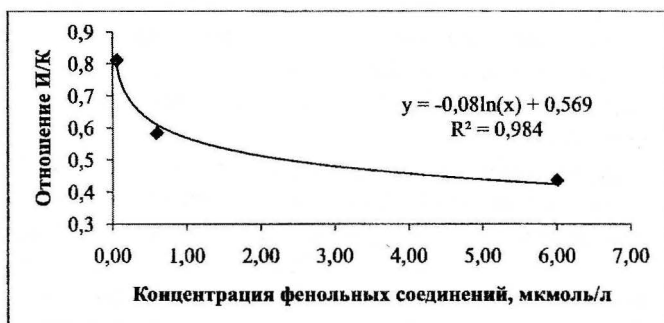
В процессе хранения двух серий цельного и измельченного сырья вереска обыкновенного побегов при комнатной температуре и относительной влажности $60 \pm 5\%$ в течение 24 месяцев была показана их стабильность.

Глава 4 Эффективность и безопасность настойки вереска обыкновенного побегов

В экспериментах с использованием лабораторных животных доказано отсутствие токсичности при однократном внутрижелудочном введении настойки вереска обыкновенного побегов. Настойка может быть отнесена к VI классу опасности («Относительно безвредные средства»), т.к. ее DL_{50} составило более 5000 мг/кг ($1,3 \times 10^4$ мг/кг). При многократном введении в течение месяца настойка вереска обыкновенного побегов не влияла на вегетативный и поведенческий статус лабораторных животных, а также не вызвала патологических сдвигов гематологических показателей.

Фармакологическая активность in vitro

Водно-спиртовые извлечения из вереска обыкновенного побегов в концентрации 58,8 мкмоль/л вызвали увеличение синтеза ТФР- β культурой макрофагов в 1,5 раза по сравнению с контрольными пробами. Индивидуальный изокверцитрин в дозе 22 мкмоль/л вызывал усиление продукции ТФР- β до $41,5 \pm 3,5$ пг/мл, что практически в 2 раза превышает уровень, наблюдаемый в контроле. Ингибирующее влияние водно-спиртовых извлечений из вереска обыкновенного побегов на синтез ИЛ-1 β лимфоцитами человека носило дозозависимый характер (рисунок 2).



Отношение И/К – отношение концентрации ИЛ-1 β в исследуемой пробе (И) к концентрации ИЛ-1 β в контрольной пробе (К)

Рисунок 2. – Влияние спиртового извлечения из вереска обыкновенного побегов на выработку ИЛ-1 β

Таким образом, снижение выработки ИЛ-1 β и стимулирование выработки ТФР- β под влиянием водно-спиртовых извлечений из вереска обыкновенного побегов в экспериментах *in vitro* может свидетельствовать о потенциальном противовоспалительном эффекте *in vivo*.

Водно-спиртовые извлечения из вереска обыкновенного побегов обладали выраженным антирадикальным действием в модельной реакции поглощения катион-радикалов ABTS $^{+\cdot}$ и радикалов DPPH. Способность водно-спиртовых извлечений поглощать катион-радикалы ABTS $^{+\cdot}$ была несколько ниже, чем у раствора стандартного образца кверцетина, и превышала антирадикальную активность растворов витамина С и витамина Е в 3,0 и 2,7 раза, соответственно.

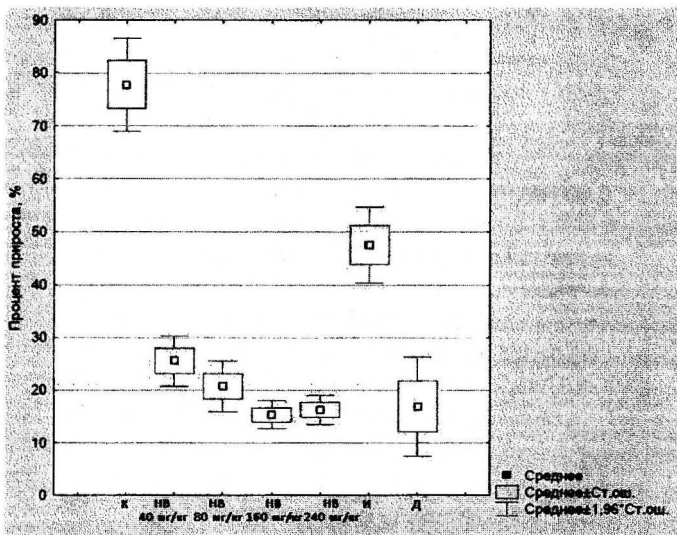
Установлено, что зависимость процента поглощения радикалов DPPH от концентрации флавоноидов в водно-спиртовом извлечении из вереска обыкновенного побегов носит логарифмический характер ($y = 15,54\ln(x) - 41,18$, $R^2 = 0,942$). Значение полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC $_{50}$), полученное расчетным способом, составляет 355 мкг/мл. Для раствора стандартного образца кверцетина данный показатель составляет 296 мкг/мл.

Изучено антимикробное действие водно-спиртового извлечения из вереска обыкновенного побегов в отношении следующих тест-культур микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. Во всех пробах наблюдали сплошной рост микроорганизмов, что свидетельствует об отсутствии антимикробной активности исследуемых извлечений в отношении указанных микроорганизмов.

Фармакологическая активность *in vivo*

На модели каррагинанового отека лапы у крыс внутрижелудочное введение настойки вереска обыкновенного побегов во всех исследуемых дозах приводило к достоверному снижению воспалительного отека ($p < 0,001$), при этом значение процента прироста массы лапы варьировало от $14,7 \pm 6,0\%$ до $25,6 \pm 12,4\%$. Раствор диклофенака натрия также вызывал значительное снижение отека воспаленной лапы (до $8,9 \pm 3,4\%$), что статистически значимо отличается от контроля ($p < 0,001$). Прирост массы лап в группе животных, получавших 2,6 мг/кг изокверцитрина, снижался в 1,7 раза по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе животных ($p < 0,001$). Результаты приведены на рисунке 3. В качестве вторичного показателя фармакологического эффекта использовали процент утешения отека воспаленной лапы. Зависимость процента утешения отека от дозы настойки вереска обыкновенного побегов можно описать при помощи полиномиального уравнения второй степени ($y = -0,0007x^2 + 0,2623x + 56,788$, $R^2 = 0,9991$). У животных исследуемых групп к концу эксперимента отмечалось снижение уровня лейкоцитов, в то время как у животных контрольной группы и группы препарата сравнения наблюдался лейкоцитоз. Установлено, что на слизистой желудков животных, получавших диклофенак натрия, были видны

покраснения, что свидетельствует о раздражающем действии препарата сравнения. При обследовании слизистой желудков животных, получавших настойку вереска обыкновенного побегов и раствор изокверцитрина, очаги раздражения не обнаружены.



К – контроль; НВ – настойка вереска обыкновенного побегов; И – раствор изокверцитрина (2,6 мг/кг); Д – раствор диклофенака натрия (10 мг/кг)

Рисунок 3. – Диаграмма размахов процента прироста массы лапы для исследуемых и контрольной групп животных (n=10)

На модели адьювантного артрита у крыс доказана способность настойки вереска обыкновенного побегов уменьшать хроническое иммунное воспаление. К концу эксперимента у животных контрольной группы объем воспаленной лапы увеличился практически в три раза, а объем здоровой лапы (вторичная реакция) – в два раза. Статистически значимое уменьшение отека воспаленной конечности, в частности, отмечалось в группе 4 (128 мг/кг) уже на 17-ый день эксперимента (критерий Вилкоксона, $n=6$, $p<0,05$). Таким образом, к концу эксперимента статистически значимое снижение отека воспаленной лапы на 43–49% отмечалось во всех исследуемых группах по сравнению с контрольной группой (рисунок 4). При этом достоверных различий между группами животных, получавших разные дозы настойки вереска обыкновенного побегов, выявлено не было (критерий Манна-Уитни, $n=6$, $p>0,05$), однако прослеживалась общая тенденция к усилению фармакологического эффекта с увеличением дозы исследуемого средства.

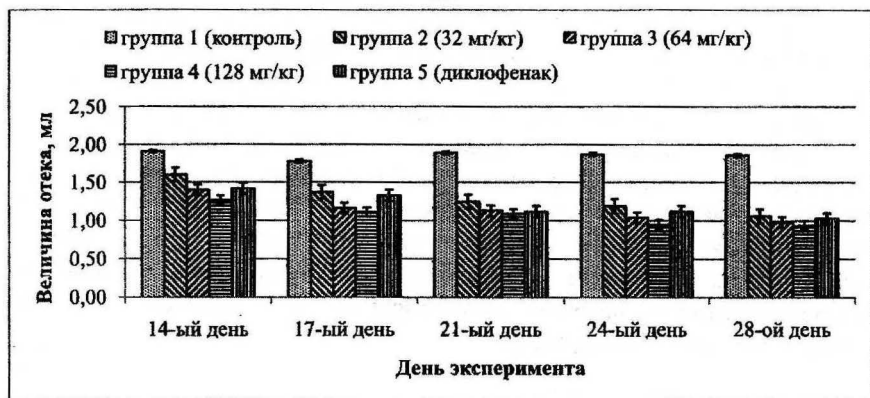


Рисунок 4. – Развитие воспалительного отека лап животных контрольной и опытных групп

При использовании комбинации диклофенака натрия и настойки вереска обыкновенного побегов в различных дозах наблюдалось явление синергизма. Наиболее выраженный эффект отмечался на дозе 128 мг/кг. Вскрытие животных всех групп не показало никаких изменений в анатомическом расположении, окраске и консистенции внутренних органов и слизистых оболочек. Значимых отклонений в скорости оседания эритроцитов и количестве лейкоцитов в исследуемых группах не наблюдалось.

Глава 5 Технология получения и стандартизация настойки вереска обыкновенного побегов

На основании результатов анализа настоек вереска обыкновенного побегов, полученных разными способами, был установлен наиболее подходящий режим экстракции (таблица 1).

Таблица 1. – Показатели качества настоек вереска обыкновенного побегов, полученных при разных режимах настаивания (n=3)

Показатель	Серия	Режим настаивания				
		мацерация	бисмацерация	мацерация + ультразвук	бисмацерация + ультразвук	ремацерация + ультразвук
Описание	01/2013 01/2014	Прозрачная жидкость светло-коричневого цвета с характерным запахом				
Сухой остаток, г/л	01/2013	10,40±0,03	17,20±0,02	16,72±0,04	16,72±0,04	16,72±0,04
	01/2014	19,80±0,03	17,20±0,02	21,72±0,04	22,70±0,02	17,75±0,03
Содержание флавоноидов, мг/мл	01/2013	0,74±0,02	0,56±0,01	0,88±0,02	0,66±0,01	0,81±0,01
	01/2014	2,08±0,03	2,03±0,04	2,14±0,02	2,06±0,03	1,98±0,02
Содержание изокверцитрина, мг/мл	01/2013	0,15±0,01	0,37±0,01	0,64±0,02	0,49±0,01	0,59±0,02
	01/2014	1,09±0,09	1,38±0,01	1,72±0,02	1,66±0,01	1,59±0,02

С целью подбора оптимальных условий для приготовления настойки из вереска обыкновенного побегов изучали влияние концентрации спирта этилового, соотношения компонентов и режима экстракции на полноту извлечения флавоноидов. Было установлено, что оптимальным экстрагентом является 60% этанол (об/об), а соотношение сырья и экстрагента должно быть 1 к 10. Мацерацию целесообразно проводить не более шести дней, поскольку при дальнейшем настаивании выход флавоноидов не увеличивается. Для интенсификации процесса рекомендуется использовать ультразвуковую обработку. На основании полученных результатов нами разработана технологическая схема производства настойки вереска обыкновенного побегов, которая представлена на рисунке 5.

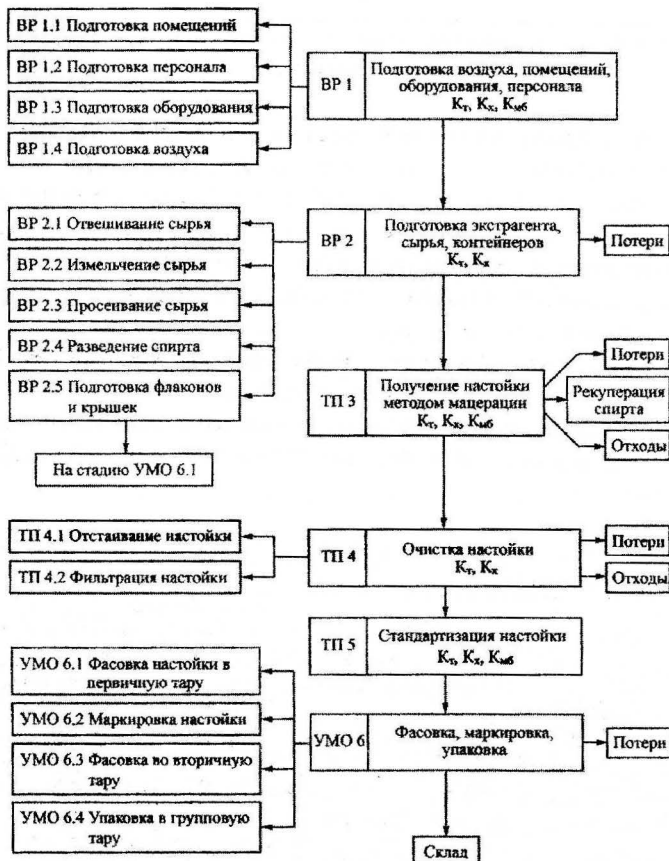


Рисунок 5. – Технологическая схема получения настойки вереска обыкновенного побегов методом мацерации

Полученную настойку стандартизировали по показателям: описание, подлинность (ВЭЖХ), содержание этанола, относительная плотность, сухой остаток, количественное определение (содержание суммы флавоноидов в пересчете на изокверцитрин). Настойка вереска обыкновенного побегов стабильна по всем контролируемым показателям в течение 24 месяцев при хранении в защищенном от света месте при комнатной температуре и относительной влажности $65 \pm 5\%$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Разработана методика количественного определения флавоноидов в вереска обыкновенного побегах методом жидкостной хроматографии. Разработанная методика валидирована в соответствии с действующими нормативными требованиями по параметрам «специфичность», «точность», «правильность» и «робастность». Вереска обыкновенного побеги следует заготавливать в конце июля (фаза начала цветения), поскольку содержание изокверцитрина и суммы флавоноидов для заготовленных в июле образцов является максимальным. Воздушно-теневая сушка вереска обыкновенного побегов позволяет наилучшим образом сохранить БАВ растения. В процессе хранения цельного и измельченного сырья при комнатной температуре и относительной влажности $60 \pm 5\%$ не отмечается существенного изменения показателей качества на протяжении 24 месяцев [2, 6-9, 17, 18, 22, 26-29].

2. Для включения в проект фармакопейной статьи на вереска обыкновенного побеги предложены внешние и анатомо-диагностические признаки цельного и измельченного сырья; разработана и валидирована по показателям «специфичность» и «воспроизводимость» методика идентификации фенольных соединений в вереска обыкновенного побегах методом ТСХ. В раздел «Числовые показатели» предлагается включить следующее: потеря в массе при высушивании должна быть не более 14,0%; содержание общей золы – не более 5,0%; содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, – не более 2,0%. На основании результатов, полученных в ходе анализа образцов вереска обыкновенного побегов, заготовленных в разных регионах Республики Беларусь, установлена нижняя граница количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на изокверцитрин в сухом сырье (не менее 1,5%) и содержания изокверцитрина (не менее 1,0%) [1, 11, 20, 29].

3. Настойка вереска обыкновенного побегов нетоксична при однократном введении грызунам, а при многократном внутрижелудочном введении крысам в течение месяца не вызывает патологических изменений внутренних органов и не приводит к сдвигу биохимических и гематологических

показателей крови. Настойка вереска обыкновенного побегов и раствор изокверцитрина проявляют выраженный противовоспалительный эффект, который заключается в уменьшении каррагинанового отека лапы крыс на 80% и на 48% соответственно. У крыс с адьювантным артритом введение настойки вереска обыкновенного побегов приводит к уменьшению первичной воспалительной реакции на 43-49%. Комбинация настойки вереска обыкновенного побегов с диклофенаком натрия вызывает усиление фармакологического эффекта. В эксперименте *in vitro* водно-спиртовые извлечения из вереска обыкновенного побегов увеличивают выработку ТФР- β в 1,5 раза и снижают концентрацию ИЛ-1 β на 56% по сравнению с контролем; обладают выраженной антирадикальной активностью в отношении свободных радикалов DPPH ($IC_{50} = 355$ мг/мл) и катион-радикалов ABTS $^{+}$; не подавляют рост музейных штаммов микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* [3, 4, 10, 12-16, 19, 23, 24].

4. На основании экспериментальных данных предложен способ получения настойки вереска обыкновенного побегов способом мацерации. Настаивание одной части измельченного сырья (750) в 10 частях 60% спирта этилового (об/об) проводят в защищенном от света месте в течение 6 суток или используют ультразвуковую экстракцию в течение часа. Предложена технологическая схема получения настойки вереска обыкновенного побегов и разработаны показатели качества данной лекарственной формы [5, 21, 25].

Рекомендации по практическому использованию

1. Материалы фармакопейной статьи «Вереска обыкновенного побегов» опубликованы в журнале «Новости экспертизы и регистрации» и будут включены в очередное издание Государственной фармакопеи Республики Беларусь [6].

2. Настойка вереска обыкновенного побегов запатентована как противовоспалительное средство для профилактики и комбинированной терапии заболеваний опорно-двигательного аппарата [30].

3. Утверждены и приняты к использованию в УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» четыре рационализаторских предложения по получению и контролю качества настойки вереска обыкновенного побегов, а также контролю качества исходного сырья.

4. Разработанные методики и результаты диссертационных исследований используются в практической и научно-исследовательской деятельности «НПК Биотест» и ИБОХ НАН Беларуси, а также в образовательном процессе ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» и УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», что подтверждено 9 актами внедрения.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в журналах, включенных в «Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований»

1-А. Веремчук, О. А. Макро- и микроскопические признаки побегов вереска обыкновенного и их проявляемость при различной степени измельченности / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Вестн. Фармации. – 2014. – № 3 (65). – С. 49-53.

2-А. Веремчук, О. А. Валидация методики количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 128-135.

3-А. Веремчук, О. А. Изучение профиля безопасности настойки вереска обыкновенного / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2015. – Т. 14, № 3. – С. 98-106.

4-А. Веремчук, О. А. Противовоспалительная активность настойки побегов вереска обыкновенного и ее основного компонента / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2016. – № 2. – С. 109-113.

5-А. Веремчук, О. А. Разработка технологии получения и стандартизация настойки вереска обыкновенного побегов / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер. Медицина. Фармация. – 2018. – Т. 41, №1. – С. 125-132.

Статьи в журналах

6-А. Вереска обыкновенного побегов / Новости экспертизы и регистрации. – 2018. – № 1 (157). – С. 58-61.

Материалы конференций

7-А. Орлова, О. А. Химический состав вереска обыкновенного и его применение в медицине / О. А. Орлова // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XII междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 1-2 нояб. 2012 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2012. – С. 126-127.

8-А. Орлова, О. А. Определение качественного состава фенольных соединений побегов вереска обыкновенного методом жидкостной хроматографии / О. А. Орлова // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XII междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 1-2 нояб. 2012 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2012. – С. 127-128.

9-А. Орлова, О. А. Идентификация фенольных соединений побегов вереска обыкновенного методом ВЭЖХ / О. А. Орлова, Д. В. Моисеев // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 68-й науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 31 янв.-1 фев., 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. В. П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 292-294.

10-А. Орлова, О. А. Подбор оптимальных условий экстракции из вереска обыкновенного / О. А. Орлова // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 65-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 24-25 апр., 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 398-399.

11-А. Веремчук, О. А. Оценка антиоксидантной активности вереска обыкновенного в сравнении с известными природными антиоксидантами / О. А. Веремчук // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XIII междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 14-15 нояб. 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 172-174.

12-А. Веремчук, О. А. Внешние и анатомо-диагностические признаки побегов вереска обыкновенного / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 69-й науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 29-30 янв., 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. В. П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 181-182.

13-А. Веремчук, О. А. Антиоксидантная активность вереска обыкновенного на модели *in vitro* / О. А. Веремчук // Молодая фармация – потенциал будущего : сб. материалов IV Всероссийской науч. конф. студентов и аспирантов с междунар. участием / С.-Петербург. хим.-фарм. акад. – СПб, 2014. – С. 425-427.

14-А. Веремчук, О. А. Влияние спиртового извлечения из побегов вереска обыкновенного на продукцию ТФР-β / О. А. Веремчук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 66-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 17-18 апр., 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 370-372.

15-А. Веремчук, О. А. Влияние спиртового извлечения из побегов вереска обыкновенного на выработку цитокинов / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Минский консилиум – 2014 : сб. материалов респ. конф. молодых ученых с междунар. участием / БелМАПО ; ред. Ю. Е. Демидчик [и др.]. – Минск, 2014. – С. 25-27.

16-А. Веремчук, О. А. Перспективы использования побегов вереска обыкновенного в качестве иммуностропного средства / О. А. Веремчук // Аспирантские чтения – 2014 : материалы конф. с междунар. участием «Молодые ученые 21 века – от современных технологий к инновациям», посвящ. 95-летию СамГМУ, Самара, 24 окт. 2014 г. ; редкол. : Г. П. Котельников (гл. ред.) [и др.]. – Самара : ООО «Типография ЦПР», 2014. – С. 258-260.

17-А. Веремчук, О. А. Оценка безопасности настойки вереска обыкновенного / О. А. Веремчук // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XIV междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию образования

ВГМУ, Витебск, 23-24 окт. 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 115-116.

18-А. Веремчук, О. А. Оптимизация условий хроматографического определения изокверцитрина в побегах вереска обыкновенного / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 70-й науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 28-29 янв., 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. В. П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 163-164.

19-А. Веремчук, О. А. Применение масс-спектрометрии в анализе фенольных соединений вереска обыкновенного / О. А. Веремчук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 67-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 23-24 апр., 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 631-633.

20-А. Веремчук, О. А. Влияние настойки побегов вереска обыкновенного на острый экссудативный отек лапы крыс / О. А. Веремчук // Молодые ученые XXI века – от идеи к практике : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 85-летию Клиник СамГМУ, Самара, 12 окт. 2015 г. ; редкол. : Г. П. Котельников (гл. ред.) [и др.]. – Самара : Аэропринт, 2015. – С. 159-160.

21-А. Веремчук, О. А. Показатели доброкачественности побегов вереска обыкновенного / О. А. Веремчук // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XV междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 4-5 нояб. 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 298-299.

22-А. Веремчук, О. А. Получение и стандартизация настойки побегов вереска обыкновенного / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 71-ой науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 27-28 янв., 2016 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. А. Т. Щастный [и др.]. – Витебск, 2016. – С. 217-218.

23-А. Веремчук, О. А. Изменение содержания биологически активных веществ в побегах вереска обыкновенного в процессе хранения / О. А. Веремчук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 68-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 20-21 апр., 2016 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; ред. С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2016. – С. 381-382.

24-А. Веремчук, О. А. Вереск обыкновенный – новый вид лекарственного растительного сырья / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Актуальные вопросы фармации Республики Беларусь : сб. тр. 9-го съезда фармацевтических работников Республики Беларусь / Бел. гос. мед. ун-т ; ред. Л. А. Реутская. – Минск, 2016. – С. 44-46.

25-А. Веремчук, О. А. Применение настойки вереска обыкновенного побегов в комбинации с диклофенаком натрия / О. А. Веремчук // Белорусские

лекарства : материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 17-18 нояб. 2016 г. / Ин-т биоорганич. хим. НАН Беларуси ; редкол. : С. А. Усанов, Е. Н. Калиниченко, П. Т. Петров. – Минск, 2016. – С. 39-44.

26-А. Веремчук, О. А. Анализ настойки вереска обыкновенного побегов методом жидкостной хроматографии / О. А. Веремчук // III Гаммермановские чтения : сб. науч. трудов науч.-метод. конф., Санкт-Петербург, 31 янв.-03 фев. 2017 г. / С.-Петерб. гос. хим.-фарм. ун-т – Санкт-Петербург, 2017. – С. 26-29.

Статьи в сборниках научных трудов

27-А. Орлова, О. А. Сравнительная характеристика комплексов фенольных соединений некоторых представителей флоры Республики Беларусь с потенциальной антиоксидантной и противовоспалительной активностью / О. А. Орлова, Д. В. Моисеев : сб. науч. работ студентов Респ. Беларусь «НИРС 2012» // Изд. центр Белорус. гос. ун-та ; ред. А. И. Жук [и др.]. – Минск, 2013. – С. 341-344.

28-А. Веремчук, О. А. Комплексы фенольных соединений некоторых представителей семейств Vacciniaceae и Ericaceae / О. А. Веремчук : сб. науч. работ студентов Респ. Беларусь «НИРС 2013» // Изд. центр Белорус. гос. ун-та ; ред. А. И. Жук [и др.]. – Минск, 2014. – С. 276-277.

Тезисы доклада

29-А. Веремчук, О. А. Влияние условий сушки на содержание биологически активных соединений в побегах вереска обыкновенного / О. А. Веремчук, Д. В. Моисеев // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине : IV науч.-практ. конф., Москва, 26 фев. 2016 г. : тез. докл. / Перв. Моск. гос. мед. ун-т; редкол. : П. В. Глыбочка (гл. ред.) [и др.]. – Москва, 2016. – С. 22-23. – (Электронное приложение к журналу «Сеченовский вестник» № 2 (24):

Патент

30-А. Противовоспалительное средство : пат. ВУ 21748 / Д. В. Моисеев, О. А. Веремчук. – Оpubл. 30.04.2018.

РЕЗЮМЕ

Веремчук Оксана Александровна

Стандартизация вереска обыкновенного побегов и разработка
противовоспалительного средства на их основе

Ключевые слова: вереска обыкновенного побеги, флавоноиды, изокверцитрин, жидкостная хроматография, спектрофотометрия, стандартизация, настойка, безопасность растительного сырья, противовоспалительное действие.

Цель работы: обосновать применение вереска обыкновенного побегов (*Callunae vulgaris cormus*) в качестве лекарственного растительного сырья для получения противовоспалительных лекарственных средств.

Методы исследования и использованная аппаратура: жидкостная хроматография с диодно-матричной («Agilent 1100») и масс-спектрометрической детекцией («Accela», «QTS Quantum Access MAX»), спектрофотометрия («Specord 250»), микроскопия («Leica PFC 295»), иммуноферментный анализ (наборы «Анализ Х», «Вектор-Бест», «Biosource» и анализатор «Aifim»).

Полученные результаты и их новизна: установлены оптимальные условия экстракции флавоноидов из вереска обыкновенного побегов, на основании чего разработана и валидирована методика количественного определения биологически активных веществ вереска обыкновенного побегов методом жидкостной хроматографии. Установлены показатели качества вереска обыкновенного побегов. Выявлены периоды заготовки и режим сушки, на которые приходится максимальное содержание флавоноидов, а также проведена оценка стабильности вереска обыкновенного побегов. Разработана технология получения настойки вереска обыкновенного побегов и доказаны отсутствие острой и подострой токсичности настойки, а также наличие у нее противовоспалительных и антирадикальных свойств.

Рекомендации по использованию: экспериментально установленные показатели качества вереска обыкновенного побегов включены в проект фармакопейной статьи на данный вид сырья. Результаты исследования используются в отделе контроля качества лекарственных средств, научно-исследовательском институте и в образовательном процессе.

Область применения: фармацевтический анализ, фармацевтическое производство, фармакология.

SUMMARY

Veramchuk Aksana Aliaksandrauna

Common heather shoots standardization and development of anti-inflammatory drug on its basis

Key words: common heather shoots, flavonoids, isoquercitrin, liquid chromatography, spectrophotometry, standardization, tincture, plant raw material safety, anti-inflammatory activity.

Aim of the study: to substantiate the use of common heather shoots (*Callunae vulgaris cormus*) as medicinal plant raw material for manufacturing anti-inflammatory drugs.

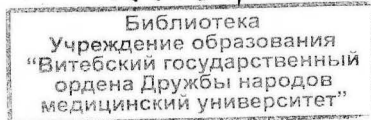
Methods of the research and used equipment: liquid chromatography with diode-array («Agilent 1100») and mass-spectrometry detection («Accela», «QTS Quantum Access MAX»), spectrophotometry («Specord 250»), microscopy («Leica PFC 295»), enzyme linked immunosorbent assay (sets «Analyze X», «Vector-Best», «Biosource» and analyzer «Aifim»).

Results of the research and its novelty: the optimal extraction conditions of flavonoids from common heather shoots have been established. Based on this analytical method for assay of biologically active substances in common heather shoots by liquid chromatography has been developed and validated. The quality parameters for common heather shoots have been specified. We have revealed the harvesting period and drying mode when the maximum content of flavonoids is observed as well as have evaluated the stability of common heather shoots. The technology of common heather shoots tincture preparation has been developed. The absence of single-dose and repeated-dose toxicity of the tincture and its anti-inflammatory and antiradical properties have been proved.

Recommendations for use: quality parameters experimentally specified for common heather shoots are included into the monograph project on plant raw material. The results of the research are used by quality control department, scientific-research institute and in the educational process.

Fields of application: pharmaceutical analysis, pharmaceutical industry, pharmacology.

499339



Библиотека ВГМУ



Подписано в печать 23.05, 2018 г. Формат бумаги 60×84 1/16.
Бумага типографская № 2. Гарнитура Times. Усл. печ. листов 1,38.
Уч.-изд. л. 1,29. Тираж 60 экз. Заказ № 521
Издатель и полиграфическое исполнение:
УО «Витебский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/453 от 30.12.2013
Пр-т Фрунзе, 27, 210023, Витебск

Научная работа выполнена в УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель:

Монсеев Дмитрий Владимирович, кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой стандартизации лекарственных средств с курсом факультета повышения квалификации и переподготовки кадров УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Библиотека ВГМУ



Официальные оппоненты:

Жебентяев Александр Ильич, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой токсикологической и аналитической химии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Алексеев Николай Александрович, кандидат фармацевтических наук, заместитель директора по науке ООО «АмантисМед»

Оппонирующая организация:

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита диссертации состоится 28 июня 2018 года в 15⁰⁰ на заседании совета по защите диссертаций Д 03.16.02 при УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» по адресу: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27 (конференц-зал морфологического корпуса, 7 этаж), e-mail: admin@vsmu.by, телефон ученого секретаря: (80212) 60-14-08; (+375 29) 217-62-05.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Автореферат разослан « » мая 2018 года.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций Д 03.16.02

Г.А. Хуткина